

**UJI AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS EKSTRAK BUAH JERUK BALI
(Citrus maxima Burm.Fz) DENGAN METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrylhidrazyl)**

**PRELEMINARY TEST AS ACTIVITY FREE ANTIRADICAL OF BALI CITRUS
FRUIT EXTRACT (Citrus maxima Burm.Fz) WITH DPPH METHOD
(1,1-Diphenyl-2-Pikrylhidrazyl)**

Artika Dhiya Navitri* dan Maria Monica SBW
Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya
e-mail : dhiya_poenya_by@yahoo.com

Abstrak. Telah dilakukan penelitian aktivitas antiradikal bebas pada buah jeruk bali. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persentase rendemen dari ekstrak metanol dan etil asetat, mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol dan etil asetat buah jeruk bali dan mengetahui aktivitas anti radikal bebas ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat buah jeruk bali (Citrus Maxima Burm.Fz). Metode yang digunakan yaitu mengekstrak buah jeruk bali, mengidentifikasi dengan beberapa pereaksi senyawa, dan untuk menguji aktifitas antiradikal bebas dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan λ (506, 516, dan 526 nm). Hasil rendemen ekstrak metanol sebesar 38,992 gr dan etil asetat sebesar 11,612 gr. Hasil uji kualitatif ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat buah jeruk bali mengandung senyawa golongan triterpenoid, fenolik dan vitamin C dan uji kuantitatif aktivitas antiradikal bebas dari masing-masing ekstrak berdasarkan data spektroskopi tersebut, diperoleh nilai IC_{50} pada ekstrak metanol sebesar 1443,125 ppm dan etil asetat sebesar 543,137 ppm. Hasil tersebut menunjukkan nilai IC_{50} pada tiap ekstrak memiliki peredaman radikal bebas yang rendah.

Kata kunci : Aktivitas antiradikal bebas, DPPH, Citrus Maxima Burm.Fz

Abstract : The determinate of free anti radical activity on grapefruit. This aim of this study is to know the percentage yield methanol and ethyl acetate extracts, find out of compounds contained in the methanol and ethyl acetate extracts of grapefruit and know the activity of methanol extract and the ethyl acetate extract of grapefruit (Citrus Maxima Burm.Fz) as an anti free radical with DPPH method with IC_{50} parameter. The chemical constituents of extract were determined by qualitative test using Mayer, Dragendroft, and Wagner reagent for alkaloid, Liberman-burchad reagent for steroid and triterpenoid, Forth test for saponin, $FeCl_3$ reagent for phenolic compound, Shinoda test for flavonoid, and vitamin C. The antioxidant activity of methanol extract and ethyl statement is determined by DPPH method using UV-Vis spectrophotometer with a wavelength (506, 516, and 526 nm). The results indicate the yield of methanol extract of 38.992 gr and 11.612 gr of ethyl acetate. The results of qualitative test showed that the methanol extract and ethyl acetate extracts of grapefruit contains a compound of triterpenoids, phenolic and vitamin C and a quantitative test of free radical activity of each extract is based on spectroscopic data, the IC_{50} values obtained in the methanol extract at 1443,125 ppm and ethyl acetate at 543.137 ppm. The results showed IC_{50} values of each extract has a low damping of free radicals.

Key words : Activity free anti radical, DPPH, grapefruit (Citrus maxima Burm.Fz)

PENDAHULUAN

Setiap hari manusia menghadapi paparan radikal bebas yang tidak henti-hentinya, baik secara endogen (oksidasi yang tidak sempurna didalam mitokondria) maupun secara eksogen (berupa polusi, asap rokok, radiasi dan sebagainya). Radikal bebas merupakan atom molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung

satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron [1].

Reaksi ini akan berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan bila tidak

dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Untuk mencegah penyakit tersebut maka diperlukan suatu zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi

Menurut Cuppert (1997) disitir oleh Widjaya (2003) antioksidan dinyatakan sebagai senyawa yang secara nyata dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dapat dioksidasi. Senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan diantaranya dapat berupa asam fenolik, flavonoid, polifenol, karoten, vitamin C, vitamin E dan likopen [2,3]. oksidasi radikal bebas yang dikenal dengan antioksidan atau antiradikal bebas.

Pengujian anti radikal bebas senyawa-senyawa bahan alam/sintesis dapat dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Pikrylhidrazyl*) sebagai senyawa radikal bebas yang stabil dengan memberikan serapan kuat pada panjang gelombang maksimumnya 516 pada spektrofotometer UV-Vis.

Antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun antioksidan alami. Antioksidan alami dapat berasal dari tumbuh-tumbuhan, buah-buahan, sayur-sayuran dan rempah-rempahan. Salah satu jenis buah yaitu buah jeruk Bali (*Citrus Maxima Burm.Fz*). Berdasarkan literatur diketahui bahwa buah jeruk Bali (*Citrus Maxima Burm.Fz*) banyak mengandung gizi-gizi yang penting bagi tubuh seperti karbohidrat, protein, vitamin, flavonoid, likopen, dan pektin, sedangkan mineral yang dominan adalah kalsium, fosfor, dan zat besi. Kandungan nutrisi dalam jeruk bali yang berfungsi sebagai antioksidan adalah vitamin C, flavonoid, dan likopen yang bermanfaat sebagai antioksidan tinggi (Anonim, Juli 2008 ; Gheldof, et al., 2002).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi berupa pelarut teknis yang didestilasi terlebih dahulu adalah etil asetat teknis, dan metanol, metanol P.a. HgCl_2 , kalium iodida, bismut nitrat, I_2 , amonia, asam sulfat 2N, asam sulfat pekat, asam asetat anhidrida, FeCl_3 , HCl pekat, pita Mg dan aquades. Sedangkan bahan-bahan untuk

menguji aktifitas antioksidan yaitu DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, *Rotary Vacuum Evaporator Buchi Rotavapor R - 124*, bejana kromatografi (Chamber), timbangan digital, penyemprot, spektrofotometer UV- Vis (*Pharma Spec UV-1700*), seperangkat alat penyaring Buchner, serta alat gelas yang lazim digunakan dalam laboratorium kimia.

CARA KERJA

Tahap ekstraksi

Buah jeruk Bali (*Citrus maxima Burm.Fz*) yang telah diblender dengan berat 3 kg. Jus jeruk Bali dibagi menjadi 2 @ 1,5 kg, lalu masing-masing sampel dimaserasi dengan pelarut metanol dan etil asetat sebanyak 3 liter selama 24 jam pada suhu kamar pada tempat yang berbeda dan diulang sebanyak 3 kali. Selanjutnya masing-masing filtrat disaring secara vakum menggunakan penyaring buchner. Filtrat yang diperoleh dari masing-masing ekstrak di uapkan secara vakum menggunakan penguap putar (*rotary vacuum evaporator*), sehingga menghasilkan ekstrak pekat.

Tahap identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat dan metanol jeruk Bali (*Citrus maxima Burm.Fz*)

Ekstrak jeruk bali dianalisis dengan uji kandungan alkaloid, uji kandungan steroid, uji kandungan triterpenoid, uji fenolik, uji kandungan flavonoid, uji kandungan saponin dan uji vitamin C

Tahap uji aktifitas penangkap radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidroksil*)

Uji kualitatif

Sebelum dilakukan uji aktivitas antiradikal bebas lebih lanjut, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan dengan uji KLT. Sebanyak 1 mg sampel. Masing-masing sampel dilarutkan dalam 1 ml metanol. Campuran larutan ditotolkan pada pelat kromatografi lapis tipis, lalu kromatogram disemprot dengan larutan DPPH 0,004% dalam metanol. Uji ini positif terhadap aktivitas antioksidan jika diperoleh bercak kuning berlatar ungu pada kromatogram.

Apabila fraksi aktif pada uji kromatografi lapis tipis autografi maka dilakukan uji lanjutan untuk menentukan besarnya aktivitas antioksidan [4].

Uji kuantitatif

Penentuan harga IC_{50} untuk menentukan aktifitas antiradikal bebas (antioksidan) dilakukan dengan menyiapkan larutan ekstrak (sampel) dalam berbagai konsentrasi. Ekstrak metanol dengan konsentrasi (50, 100, 200, 250, dan 500 ppm), sedangkan ekstrak etil asetat dengan konsentrasi (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm). Sebanyak 300 μ l dari masing-masing larutan ekstrak tersebut ditambahkan kedalam 3 ml larutan DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidroksil*) 0,004% dalam metanol. Selanjutnya campuran tersebut dikocok kuat, dibiarkan selama 30 menit diruang gelap, lalu diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 516 nm. Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap blanko yang berisi metanol. Selanjutnya harga IC_{50} dari masing-masing komponen ekstrak dihitung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maseri karena cara ini merupakan metode yang mudah dilakukan, hemat biaya, dan menggunakan alat-alat yang sederhana. Caranya cukup merendam sampel dengan pelarut. Pelarut yang digunakan yaitu metanol dan etil asetat. Semua masing-masing filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu kemudian dipekatkan

menggunakan rotary vacuum evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental metanol dan ekstrak kental etil asetat. Hasil ekstrak metanol dan etil asetat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstrak metanol dan etil asetat buah jeruk bali

No	Sampel	Berat juice (kg)	Berat Wadah		Ekstrak pekat (gr)
			Vial kosong (gr)	Vial + Ekstrak (gr)	
1	Metanol	1,5	187,469	226,461	38,992
2	Etil asetat	1,5	44,756	56,368	11,612

Berdasarkan Tabel 1 rendemen ekstrak pekat pada pelarut metanol lebih besar dari pada rendemen pelarut etil asetat. Hal ini dikarenakan bahwa kandungan senyawa polar pada buah jeruk bali lebih banyak dari pada senyawa semipolar.

Identifikasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol dan etil asetat jeruk Bali (*Citrus Maxima* Burm.Fz)

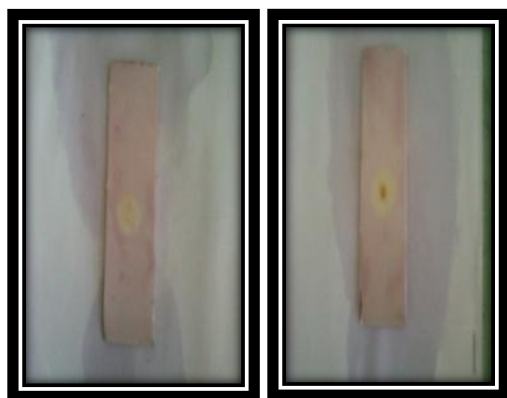
Berdasarkan hasil uji identifikasi senyawa metabolit sekunder diperoleh bahwa ekstrak metanol dan etil asetat mengandung senyawa triterpenoid, fenolik, dan vitamin C. Hasil uji identifikasi ekstrak dari masing – masing ekstrak ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel. 2. Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol dan etil asetat

No	Sampel	Golongan Senyawa	Hasil Pengujian
1	Metanol	Alkaloid	–
		Triterpenoid	+
		Steroid	–
		Fenolik	++
		Flavonoid	–
		Saponin	–
		Vitamin C	+
2	Etil Asetat	Alkaloid	–
		Triterpenoid	+
		Steroid	–
		Fenolik	+
		Flavonoid	–
		Saponin	–
		Vitamin C	++

Uji kualitatif antiradikal bebas pada ekstrak metanol dan etil asetat buah jeruk bali

Uji antiradikal bebas secara kualitatif menunjukkan hasil yang positif terhadap aktivitas antiradikal bebas. Hal ini ditunjukkan dari adanya bercak atau noda berwarna kekuningan (tepat dimana senyawa isolat ditotolkan) dengan latar belakang ungu pada pelat KLT. Perubahan warna pada noda, karena senyawa ekstrak mampu meredam radikal bebas DPPH atau memiliki aktivitas antioksidan.

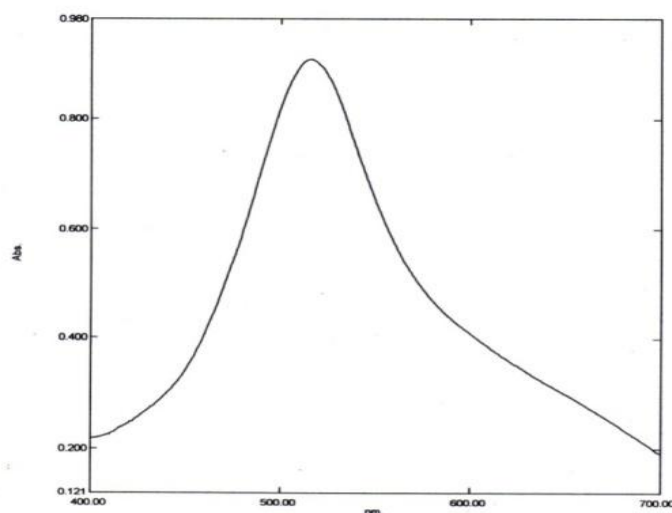


Gambar 1. Peredaman warna DPPH oleh ekstrak metanol (A) dan ekstrak etil asetat(B).

Perubahan warna pada noda, karena senyawa ekstrak mampu meredam radikal bebas DPPH atau memiliki aktivitas antioksidan. Peredaman warna DPPH (*1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil*) terjadi karena adanya senyawa yang dapat memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH (*1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil*) sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*). Setelah melalui tahap penapisan senyawa antiradikal bebas dengan KLT, maka perlu untuk mengetahui besar peredaman radikal bebas kapasitas peredaman radikal bebas DPPH-nya yang ditentukan dengan penentuan nilai IC_{50} menggunakan larutan DPPH secara spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang (506, 516, dan 526 nm)

Penentuan IC_{50} Pada tiap-tiap Ekstrak

Penentuan IC_{50} pada masing-masing ekstrak buah jeruk bali diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum (λ) DPPH 0,004 % dalam metanol sebagai kontrol menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 516 nm dengan absorbansi sebesar 0,908. Adapun spektra larutan DPPH 0,004 % dalam metanol dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektra DPPH 0,004 % dalam methanol

Setelah menentukan panjang gelombang maksimum pada larutan DPPH, kemudian dilakukan penentuan serapan panjang gelombang (506, 516, dan 526 nm) terhadap masing-masing ekstrak dengan berbagai konsentrasi. Ekstrak metanol dibuat dalam berbagai konsentrasi (50, 100, 200, 250, dan 500 ppm) dan etil asetat dibuat dalam berbagai konsentrasi (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm). Sebanyak 300 µl dari masing-

masing larutan ekstrak tersebut ditambahkan kedalam 3 ml larutan DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidroksil*) 0,004% dalam metanol. Selanjutnya campuran tersebut dikocok kuat, dibiarkan selama 30 menit di ruang gelap, lalu diukur absorbansinya. Absorbansi yang diperoleh dihitung aktivitasnya (% peredaman). Hasil dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

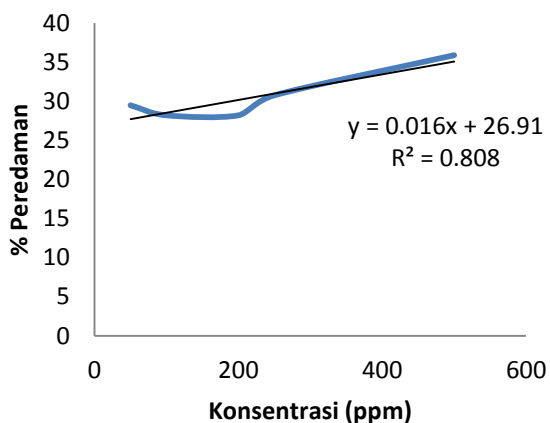
Tabel 3. Hasil aktivitas antiradikal bebas ekstrak metanol

No	Konsentrasi ppm	Absorbansi			Absorbansi Hitung	% Peredaman
		506	516	526		
1	DPPH	0,884	0.908	0.854	0.039	-
2	50	0,748	0.795	0.787	0.0275	29,488
3	100	0,750	0.796	0.786	0.028	28,206
4	200	0,749	0.794	0.783	0.028	28,206
5	250	0.748	0.792	0.782	0.027	30,769
6	500	0.739	0.773	0.757	0.025	35,898

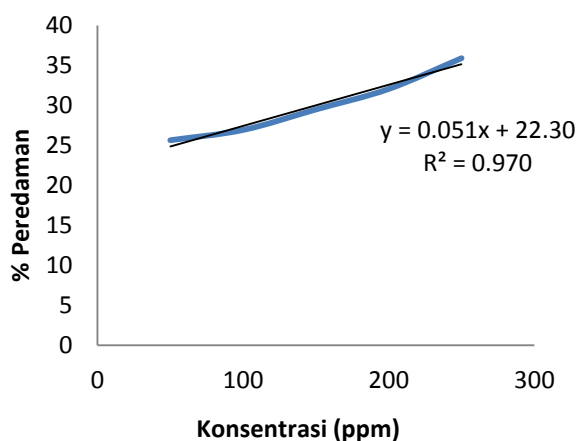
Tabel 4. Hasil aktivitas antiradikal bebas ekstrak etil asetat

No	Konsentrasi ppm	Absorbansi			Absorbansi Hitung	% Peredaman
		506	516	526		
1	DPPH	0.884	0.908	0.854	0.039	-
2	50	0.755	0.803	0.793	0.0290	25.642
3	100	0.762	0.808	0.797	0.0285	26.924
4	150	0.744	0.787	0.775	0.0275	29.488
5	200	0.718	0.759	0.747	0.0265	32.052
6	250	0.7	0.738	0.726	0.025	35.898

Besarnya aktivitas antiradikal bebas dinyatakan dengan IC_{50} yaitu besar konsentrasi larutan uji yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal. Konsentrasi efektif yang dapat menurunkan 50% intensitas serapan blanko yang dapat dihitung dari kurva regresi linier antara % peredaman serapan dari konsentrasi masing - masing ekstrak.



Gambar 2. Grafik aktivitas antiradikal bebas ekstrak metanol buah jeruk bali



Gambar 3. Grafik aktivitas antiradikal bebas ekstrak etil asetat buah jeruk bali.

Berdasarkan hasil perhitungan regresi hubungan antara konsentrasi ekstrak metanol dengan persen peredaman absorbansi DPPH diperoleh nilai IC_{50} dari tiap-tiap sampel. Dari hasil Tabel 5 diketahui bahwa kedua sampel memiliki aktivitas antiradikal bebas

yang sangat rendah karena memiliki nilai IC_{50} lebih dari 200 $\mu\text{g/ml}$

Tabel 5. Hasil persen peredaman ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat

No	Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
1	Ekstrak metanol	1443,125
2	Ekstrak etil asetat	543,137

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pada ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat pada buah jeruk bali mengandung golongan senyawa triterpenoid, fenolik dan vitamin C. Dari penentuan harga IC_{50} diperoleh aktivitas penangkap radikal bebas DPPH diketahui bahwa ekstrak metanol buah jeruk bali memiliki aktivitas antiradikal bebas sebesar 1443,125 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antiradikal bebas sebesar 543,137 $\mu\text{g/ml}$ secara spektrofotometer UV-Vis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid I*. Jakarta : Trubus Agriwijaya.
2. Ervina, M. dkk. 2008. *Isolasi Senyawa Antioksidan dari Rimpang Temu Ireng (Curcuma aeruginosa Roxb.)*. http://www.lppm.wima.ac.id/marta_1.pdf. Tanggal akses 11 Maret 2008.
3. Okawa, M., J. Kinjo, T. Nohara and M.ono. 2001. Modification Methond" DPPH (1,1-difenil-1-pikrilhidrazil) Radical Scavenging Activity Of flavonoids Obtained From Some Medicinal Plants". Biol. Pharm. Bull., 24 (10 Harborne, J.B., Mabry, H., dan Mabry, T.J. 1975. *The Flavonoid*, first edition, Chapman and Hall, London. Diakses Tanggal 2 Mei 2011.
4. Prakash A. 2001. *Antioxidant Activity*. Medalion Laboratories Analytical Progress.19(2).